

КОММЕРЧЕСКИЕ ТЕСТ-СИСТЕМЫ «ИД-СТРЕП» И «АБ-СТРБ» ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СТРЕПТОКОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

*Пинчук А.Н., Гончарова А.И., Шилин В.Е., Окулич В.К.,
Коржова А.А., Какойченкова А.К.*

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Введение. Стрептококки относятся к наиболее распространенной группе микроорганизмов, высеваемых с поверхности слизистых оболочек миндалин человека, играющих важную роль как в развитии ряда заболеваний, так и в формировании нормобиоценотического микробного сообщества на тонзиллярной поверхности [1, 2]. Как и большинство других микроорганизмов, стрептококки в естественных и искусственно созданных окружающих средах существуют в виде биопленок, что является серьезной угрозой для практического здравоохранения. В связи с этим необходимо пересматривать многие принципы микробиологических исследований, а также искать пути эффективной борьбы с биопленками [3].

Цель работы. Разработать коммерческие автоматизированные тест-системы «ИД-СТРЕП» и «АБ-СТРБ» для диагностики возбудителей стрептококковых инфекций.

Материал и методы. В качестве материалов для исследования использовали патологические ткани из гнойно-некротического очага, а также биоптаты глубоких тканей. Далее выделяли чистые культуры различных видов стрептококков, используя 5% кровяной Колумбия-агар для обнаружения.

Для изготовления тест-системы «ИД-СТРЕП» были отобраны 22 теста для определения биохимической активности микроорганизмов: тесты на способность утилизировать углеводы (D-рибоза, D-маннит, D-лактоза, D-трегалоза, D-раффиноза, D-сахароза, L-арабиноза, α -циклодекстрин, пуллулан, D-мальтоза, D-мелибиоза, D-мелицитоза, метил- β D-глюкопиранозид, D-тагатаза), тест на определение активности щелочной фосфатазы (4-нитрофенил- β D-галактопиранозид), тесты для определения α -, β -галактозидазной, β -глюкозидазной, пироглютаминат-ариламидазной активностей (4-нитрофенил- α D-галактопиранозид, 2-нафтил- β D-галактопиранозид, резорурфин- β D-галактопиранозид, резорурфин- β D-глюкопиранозид, пироглютаминат- β -нафтиламид), тест на образование ацетона (натрия пируват), тест на определение способности гидролизовать натрия гиппурат. Для постановки теста готовили суспензии исследуемых суточных культур на ($2 \pm 0,1$) мл стерильной деионизированной воде с плотностью 3 оптические единицы McFarland, после чего полученную взвесь микроорганизмов вносили в лунки планшета по 135 мкл. Далее планшет инкубировали при температуре (36 ± 2) °C в течение 18-24 часов в аэробных условиях и производили визуальный и/или инструментальный учёт.

Тест-система «АБ-СТРБ» для определения чувствительности стрептококков включала два этапа исследований. Первый этап позволяет определять чувствительность стрептококков к антибактериальным лекарственным средствам (амикацин, амоксициллин+клавулат, ампициллин+сульбактам, ампициллин, бензилпенициллин, ванкомицин, гентамицин, имипенем, левофлоксацин, линезолид, меропенем, моксифлоксацин, стрептомицин, тетрациклин, тигециклин, фосфомицин, хлорамфеникол, цiproфлоксацин, эритромицин), а также выявлять способность микроорганизмов формировать биоплёнки. Для определения чувствительности к антибиотикам у энтерококков использовались: ампициллин, ванкомицин, гентамицин, левофлоксацин, линезолид, меропенем, моксифлоксацин, стрептомицин, тетрациклин, тигециклин, фосфомицин, хлорамфеникол, эритромицин. Вторая часть тест-системы предназначена для определения чувствительности стрептококков в составе биоплёнки к антибиотикам (моксифлоксацин, левофлоксацин, цiproфлоксацин, тигециклин, линезолид, фосфомицин). Для постановки тест-системы «АБ-СТРБ» готовили взвесь микроорганизмов: бактериологической петлей вносили одну или более колоний чистой культуры в ампулу с 2 мл стерильного раствора NaCl с массовой долей 0,9%. Оптическая плотность взвеси в ампуле после внесения микроорганизма должна была соответствовать 0,5 оптическим единицам McFarland.

Приготовленную суспензию переносили в ампулу с питательной АБ средой 200 мкл и тщательно перемешивали, после чего вносили в каждую лунку планшета по 135 мкл питательной среды АБ с микроорганизмами. Планшет накрывали крышкой и инкубировали 18-24 ч при 36±20С в микроаэрофильных условиях с добавлением 5-10% CO₂. При визуальном учёте при наличии роста в лунке штамм считали резистентным, а при отсутствии роста – чувствительным к определённому антибиотику. Инструментальный учёт производили с помощью многоканального спектрофотометра Ф300 и компьютера с программным обеспечением (программа bactoSTREP зарегистрирована в Национальном центре интеллектуальной собственности, №954 от 06.06.2017). Индикация биопленки производилась спектрофотометрически с помощью окраски раствором кристаллического фиолетового с определением массы микробной биоплёнки.

Результаты и обсуждение. Полученные данные подвергались статистической обработке с помощью пакета прикладных программ «Statistica 10.0 Advanced» и «Excel».

В настоящее время завершены клинические испытания тест-системы «ИД-СТРЕП» на базах: УЗ «Пинская центральная больница», ГУ «Брестский областной ЦГЭ и общественного здоровья», ГУ «Городская инфекционная клиническая больница» г. Минск. Технические условия согласованы в УП Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении, а также МЗ республики Беларусь.

Получены регистрационные удостоверения тест-система «ИД-СТРЕП» для идентификации стрептококков (регистрационный номер Мн-7.1198642-2004) и Тест-система «АБ-СТРБ» для определения чувствительности к антибиотикам возбудителей стрептококковой инфекции с учетом способности формировать биопленку (регистрационный номер Мн-7.113945/7.004-2004), выданные МЗ Республики Беларусь от 19.12.2019 г.

Выводы. Разработанные тест-системы «ИД-СТРЕП» и «АБ-СТРБ» характеризуются относительной дешевизной, простотой в изготовлении и эксплуатации и могут быть рекомендованы в клинической практике медицинских учреждений, имеющих в своем составе бактериологические лаборатории.

Литература:

1. Косяков, С.Я. Современные представления о тонзиллофарингите / С.Я. Косяков, И.Б. Анготоева, А.А. Мулдашева // Мед. совет. – 2015. – № 17. – С. 32-37.
2. Персистентный потенциал возбудителей хронического тонзиллита / З.Ф. Хараева [и др.] // Соврем. проблемы науки и образования. – 2016. – № 2. – С. 124.
3. Bacterial resistance to antimicrobials: mechanisms, genetics, medical practice and public health / L. Jian [et al.] // Biot. Let. – 2002. – Vol. 24, № 10. – P. 801-805.

УДК 614.449

ХИМИКО–АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ АНОЛИТА

Прошина Г.А., Григорьева С.В.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Введение. В настоящее время перспективными являются методы электрохимической активации солевых растворов на электрохимических установках. Такие установки позволяют получать дезинфицирующие растворы анолита из воды и поваренной соли непосредственно на месте потребления. Электрохимическая активация разбавленных водно-солевых растворов не является законченным технологическим процессом. В связи с этим возможно регулирование физико-химических свойств растворов, а это может привести к повышению их эффективности.

Цель работы. Изучить химико-аналитические показатели раствора анолита в зависимости от концентрации исходного раствора натрия хлорида и силы тока электрохимической активации.

Материал и методы исследований. Раствор анолита получали на установке «Аквamed» из водного раствора натрия хлорида. Было выполнено 2 серии опытов. В 1-й серии опытов растворы анолита получали на установке «Аквamed» из водного раствора натрия хлорида с концентрацией 2, 3 и 4 г/дм³. Сила тока соответствовала 2А, производительность установки была 60 дм³/ч.